

APPENDIX 2

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-106385

(43) 公開日 平成11年(1999) 4月20日

(51) Int. Cl. °	識別記号	F I		
C07D471/04	114	C07D471/04	114	A
A61K 31/435	AAB	A61K 31/435	AAB	
	ACD		ACD	
	AED		AED	

(21) 出願番号	特願平10-223178	(71) 出願人	000001904 サントリー株式会社 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番10号
(22) 出願日	平成10年(1998) 8月6日	(72) 発明者	島木 哲男 大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号 サントリー株式会社生物医学研究所内
(31) 優先権主張番号	特願平9-212322	(72) 発明者	井上 英和 大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号 サントリー株式会社生物医学研究所内
(32) 優先日	平9(1997) 8月6日	(72) 発明者	林 靖浩 大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号 サントリー株式会社生物医学研究所内
(33) 優先権主張国	日本 (J P)	(74) 代理人	弁理士 石田 敬 (外2名)

審査請求 未請求 請求項の数31 O L (全38頁)

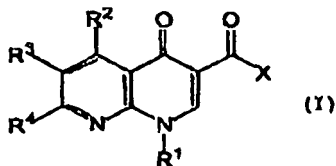
(64) 【発明の名称】 IV型ホスホジエステラーゼ阻害作用を有する1-アリール-1, 8-ナフチリジン-4-オン誘導体

(57) 【要約】

【課題】 IV型ホスホジエステラーゼを選択的に阻害する化合物の開発。

【解決手段】 一般式 (I) :

【化1】



(式中、R¹は置換もしくは非置換のアリール基又はヘテロアリール基を示し、R², R³及びR⁴は独立に水素、置換もしくは非置換の低級アルキル基又はハロゲンを示し、Xは基NR⁵, R⁶又はOR⁷を示し、R⁵及びR⁶は独立に水素、置換もしくは非置換の低級アルキル基、シクロアルキル基、アリール基又はヘテロアリール基を示し、R⁷は水素、置換もしくは非置換の低級アルキル基又はシクロアルキル基を示す)で表されるIV型ホスホジエステラーゼ阻害作用を有する1-アリール-1,8-ナフチリジン-4-オ

ン誘導体、その塩又は溶媒和物並びにそれを含むIV型ホスホジエステラーゼ阻害剤。

(10)

特開平11-106385

17
表 1

化合物	PDE IV - IC ₅₀ (μM)
実施例 19	0.93
実施例 24	0.60
実施例 51	1.40
実施例 52	0.15
実施例 53	0.027
実施例 54	0.035
実施例 55	0.031
実施例 56	0.026
実施例 57	0.71
実施例 58	0.42
実施例 59	0.64
実施例 61	0.39
実施例 62	1.60
実施例 63	1.20
実施例 64	0.12
実施例 65	0.27
実施例 67	0.060
実施例 69	0.013
実施例 70	0.81
実施例 72	0.18
実施例 73	0.81
実施例 74	0.42
実施例 75	0.10
実施例 76	0.50
実施例 77	0.18
実施例 79	0.055
実施例 80	0.11
実施例 81	0.11
実施例 85	0.55
実施例 86	0.032
実施例 87	0.072
実施例 90	0.000
実施例 91	0.052
実施例 92	0.14
実施例 93	0.016
実施例 94	0.25
実施例 97	0.47
実施例 98	0.16
実施例 00	0.0034

【表 2】

18
表 1 (続)

化合物	PDE IV - IC ₅₀ (μM)
実施例 00	0.85
実施例 02	0.059
実施例 03	0.059
実施例 04	0.085
実施例 05	0.0004
実施例 06	0.0004
実施例 07	0.0004
実施例 08	0.0004
実施例 09	0.0004
実施例 10	0.0004
実施例 11	0.0004
実施例 12	0.0004
実施例 13	0.0004
実施例 14	0.0004
実施例 15	0.0004
実施例 16	0.0004
実施例 17	0.0004
実施例 18	0.0004
実施例 19	0.0004
実施例 20	0.0004
実施例 21	0.0004
実施例 22	0.0004
実施例 23	0.0004
実施例 24	0.0004
実施例 25	0.0004
実施例 26	0.0004
実施例 27	0.0004
実施例 28	0.0004
実施例 29	0.0004
実施例 30	0.0004
実施例 31	0.0004
実施例 32	0.0004
実施例 33	0.0004
実施例 34	0.0004
実施例 35	0.0004
実施例 36	0.0004
実施例 37	0.0004
実施例 38	0.0004
実施例 39	0.0004
実施例 40	0.0004
実施例 41	0.0004
実施例 42	0.0004
実施例 43	0.0004
実施例 44	0.0004
実施例 45	0.0004
実施例 46	0.0004
実施例 47	0.0004
実施例 48	0.0004
実施例 49	0.0004
実施例 50	0.0004
実施例 51	0.0004
実施例 52	0.0004
実施例 53	0.0004
実施例 54	0.0004
実施例 55	0.0004
実施例 56	0.0004
実施例 57	0.0004
実施例 58	0.0004
実施例 59	0.0004
実施例 60	0.0004
実施例 61	0.0004
実施例 62	0.0004
実施例 63	0.0004
実施例 64	0.0004
実施例 65	0.0004
実施例 66	0.0004
実施例 67	0.0004
実施例 68	0.0004
実施例 69	0.0004
実施例 70	0.0004
実施例 71	0.0004
実施例 72	0.0004
実施例 73	0.0004
実施例 74	0.0004
実施例 75	0.0004
実施例 76	0.0004
実施例 77	0.0004
実施例 78	0.0004
実施例 79	0.0004
実施例 80	0.0004
実施例 81	0.0004
実施例 82	0.0004
実施例 83	0.0004
実施例 84	0.0004
実施例 85	0.0004
実施例 86	0.0004
実施例 87	0.0004
実施例 88	0.0004
実施例 89	0.0004
実施例 90	0.0004
実施例 91	0.0004
実施例 92	0.0004
実施例 93	0.0004
実施例 94	0.0004
実施例 95	0.0004
実施例 96	0.0004
実施例 97	0.0004
実施例 98	0.0004
実施例 99	0.0004
実施例 00	0.0004

【0043】上記ホスホジエステラーゼ阻害活性試験の結果、本発明に係る1-アリール-1,8-ナフチリジン-4-オン誘導体は良好な阻害効果を示すことが確認された。

- 30 【0044】本発明化合物のLPS 刺激マクロファージによるTNF-α産生阻害活性は、以下に示す試験によって確認した。

（1）LPS刺激マクロファージによるTNF-α産生阻害活性測定法

LPS 刺激マクロファージによるTNF-α産生を阻害する本発明化合物の能力を評価するために、Immunopharmacol.

29, 121-127 (1995) に準じて以下のアッセイを用いた。

- 1) 6ないし10週齢の雌BALB/c系マウスを用いてチオグリコレート培地2ml を腹腔内投与し、4日後に腹腔内をPBS10ml で洗浄することにより、一匹あたり1ないし2x10⁶個の腹腔渗出細胞を得た。赤血球溶解液（0.75% 塩化アンモニウム、17mMトリス塩酸緩衝液、pH7.2）に懸濁し遠心操作後、10% ウシ胎児血清を含むRPMI1640培地に再懸濁し、96穴細胞培養プレートに1 x 10⁵ 個/50μl/wellの密度で播種した。これらの細胞は培養器に強固に付着すること、非特異的エステラーゼ染色に陽性であったことから、これをマウス腹腔マクロファージとして試験に用いた。なお実験には一晩37℃、5%CO₂ の条件下で前培養したマウス腹腔マクロファージを用いた。

(11)

特開平11-106385

19

20

2) E. Coli (血清型055:B5) 由来のLPS を1mg/mlの濃度でPBS に溶解した後、ろ過滅菌した。試験化合物をDMSOにて溶解し、最終使用濃度の1000倍濃度溶液とした。10% ウシ胎児血清を含むRPMI1640培地0.5ml に上記LPS 原液10 μ l (最終濃度10 μ g/ml) および被験物質原液1 μ l を加え混和したものを、前記の細胞に対し50 μ l / well加え、さらに8時間培養した。各wellより培養上清を回収してそのTNF- α 濃度をELISA 法 (CytoscreenTM Immunoassay Kit mouse TNF- α , BioSource International 社) にて測定した。

3) IC₅₀はLPS 刺激により惹起されたTNF- α 産生を50%

阻害する試験化合物濃度として、各化合物について算出した。

【0045】 (2) 各化合物のLPS 刺激マクロファージによるTNF- α 産生阻害活性

上記測定法により得られた LPS刺激マクロファージによるTNF- α 産生阻害活性IC₅₀値を下記表IIに示す。比較例は、前述の国際公開公報第97/04775号実施例1記載の化合物である。

【0046】

10 【表3】

表 II

化合物	TNF- α 産生阻害活性IC ₅₀ (μ M)
実施例 51	0.40
実施例 53	0.010
実施例 54	0.10
実施例 55	0.10
実施例 56	0.004
実施例 57	1.0
実施例 58	0.42
実施例 61	1.0
実施例 64	0.10
実施例 65	0.60
実施例 67	0.70
実施例 69	0.10
実施例 70	1.0
実施例 72	0.01
実施例 73	1.0
実施例 74	0.40
実施例 75	0.20
実施例 77	0.10
実施例 79	0.30
実施例 80	0.10
実施例 81	0.50
実施例 86	0.40
実施例 87	0.20
実施例 90	0.50
実施例 91	0.10
実施例 92	0.20
実施例 93	0.030
実施例 94	0.50
実施例 98	1.0
実施例 99	0.025

【表4】

1-ARYL-1,8-NAPHTHYRIDIN-4-ONE DERIVATIVE HAVING INHIBITING ACTION ON IV TYPE PHOSPHODIESTERASE**Publication number:** JP11106385**Publication date:** 1999-04-20**Inventor:** SHIMAMOTO TETSUO; INOUE HIDEKAZU; HAYASHI YASUHIRO**Applicant:** SUNTORY LTD**Classification:****- international:** C07D471/04; A61K31/435; A61P11/00; A61P25/00; A61P43/00; C07D471/00; A61K31/435; A61P11/00; A61P25/00; A61P43/00; (IPC1-7): C07D471/04; A61K31/435**- European:****Application number:** JP19980223178 19980806**Priority number(s):** JP19980223178 19980806; JP19970212322 19970806**Report a data error here****Abstract of JP11106385**

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject new derivative, comprising a specific 1-aryl-1,8-naphthyridin-4-one, capable of selectively inhibiting IV type phosphodiesterases and useful as a preventing and therapeutic agent or the like for diseases in which a cytokine participates. **SOLUTION:** This new 1-aryl-1,8-naphthyridin-4-one derivative (a salt or a solvate) is represented by formula I [R<1> is a (substituted)aryl or a (substituted)heteroaryl; R<2> to R<4> are each H or a (substituted)lower alkyl; X is a group NR<5> R<6> (R<5> and R<6> are each H, a lower alkyl, aryl or the like) or the like] and is useful as an active ingredient or the like of an inhibitor of IV type phosphodiesterases and a preventing, therapeutic agent or the like for diseases in which a cytokine participates. The compound is obtained by reacting a compound represented by formula II (R<7> is a lower alkyl or a cycloalkyl) with ethyl orthocarbonate, then providing a compound represented by formula III (Et is ethyl), subsequently reacting the resultant compound with amines represented by the formula R<1> NH₂, treating and cyclizing the prepared compound represented by formula IV with NaH or the like, hydrolyzing the resultant ester and reacting the obtained compound with an amine component represented by the formula HNR<5> R<6> or the like.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

- 1 -

English translation (excerpt) of JP, 11-106385, A,
Page 10, Column 18 to Page 11, Column 20

[0044] The inhibitory activities of the compound of the present invention on TNF- α production by LPS stimulated macrophages were verified by the following test:

(1) Measurement of TNF- α Production Inhibitory Activity by LPS Stimulated Macrophages

The following assay was used to evaluate the ability of the compound of the present invention to suppress TNF- α production by LPS stimulated macrophages according to Immuno pharmacol., 29, 121-127 (1995).

1) Female BALB/c mice (6 to 10 week old) were used, and received an intraperitoneal administration of thioglycolate at a dose of 2 ml. Four days later, the abdominal cavities were washed by 10 ml of PBS, whereby (1 to 2) $\times 10^7$ peritoneal cells were obtained per mouse. These were suspended in a hemolytic buffer (0.75% ammonium chloride, 17 mM tris-HCl buffer, pH7.2), centrifuged, then resuspended in an RPMI1640 medium containing 10% fetal calf serum and seeded in a 96-well cell culture plate at a density of 1×10^5 cells/50 μ l/well. Since these cells adhered strongly to the tissue culture plate and were positive in nonspecific esterase staining, they were used for the test as mouse peritoneal macrophages. Mouse peritoneal macrophages were precultured overnight at 37°C in 5% CO₂ for the experiment.

2) E. Coli (serum type 055: B5)-derived LPS was dissolved in PBS at a concentration of 1 mg/ml, then sterilized by filtration. The test compound was dissolved in DMSO to make a 1000-fold concentration solution of the final concentration for use. Ten μ l of the above LPS stock

- 2 -

solution (final concentration: 10 μ g/ml) and 1 μ l of the tested substance stock solution were added and mixed in 0.5 ml of RPMI1640 medium containing 10% fetal calf serum. This was added to the above cells at 50 μ l/well and cultured for 8 hours. The cultured supernatant was recovered from each well and each TNF- α level was measured by ELISA (Cytoscreen™ Immunoassay Kit Mouse TNF- α , BioSource International).

3) The IC₅₀ was calculated for each compound as the concentration of the test compound inhibiting 50% of the TNF- α production caused by LPS stimulus.

[0045] (2) TNF- α Production Inhibitory Activity by LPS Stimulated Macrophages

The IC₅₀ values for the TNF- α production inhibitory activity obtained by the above method are shown in the following Table II. The comparative example was the compound described in WO-A-97-04775, Example 1, mentioned above.

[0046]

[TABLE 3]

TABLE II